

Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Roska Tamás Műszaki és
Természettudományi Doktori Iskola



Posztzinaptikus fehérjekomplexek számítógépes modellezése

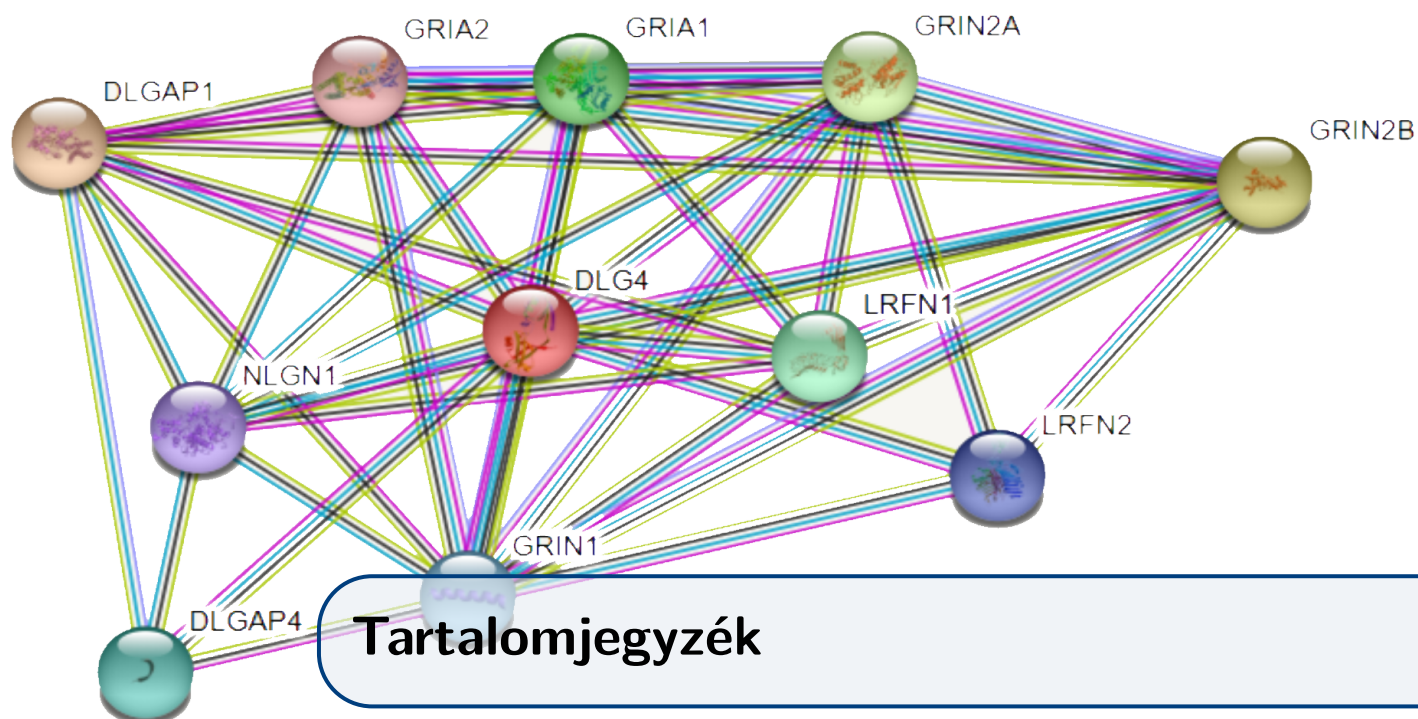
PhD Disszertáció tézisei

Miski Marcell

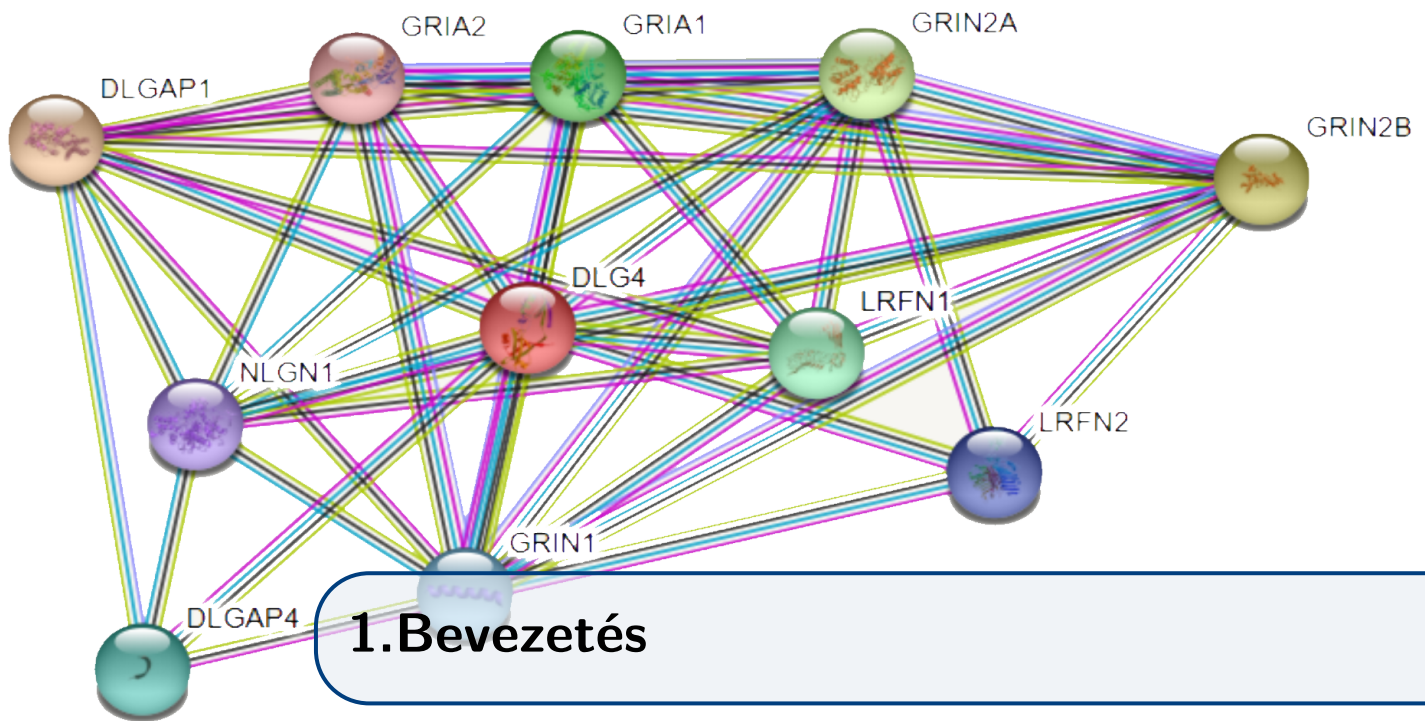
Témavezető: Prof. Dr. Csikász-Nagy Attila DSc

2024

PÁZMÁNY PÉTER KATOLIKUS EGYETEM,
Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori Iskola
A *PhD* fokozat megszerzésére benyújtott dolgozat
2024. július 25.



1	Bevezetés	4
1.1	A posztszinaptikus denzitás	4
1.2	A szinaptom elmélet	4
1.3	Fehérjekomplexek kialakulásának ágens alapú szimulációja	5
1.4	Fehérjekomplexek 3D szerkezetének modellezése	5
2	Célkitűzések	6
3	Eredmények	8
3.0.1	A modellrendszer előkészítése	8
3.0.2	Az ágens-alapú szimulációk értékeléséhez kidolgozott eljárások	10
3.0.3	A szimulációk elemzése és létjogosultsága	12
3.0.4	Hipomorf mutáció hatásának vizsgálata	13
3.0.5	A komplexek háromdimenziós vizsgálata	15
4	Összefoglalás	16
4.1	Megközelítésem indoklása	16
4.2	A PSD-komplexek modelljei – milyen messze vagyunk a valóságtól?	16
4.3	Kutatásom kilátásai: lehetséges hosszútávú irányai és kibontakozása	17
5	Köszönetnyilvánítás	18
6	Tézisek és közlemények	19



1. Bevezetés

1.1 A poszt-szinaptikus denzitás

A poszt-szinaptikus denzitás (postsynaptic density, PSD) a poszt-szinaptikus neuron dendritjeinek membránjához közeli fehérjedús része [1]. Elektronmikroszkópos képeken sötét („elektrondenz”) sávként jelenik meg, nevét is erről kapta. A PSD fehérjéi között számos receptor és más állványfehérje található, amelyek kulcsfontosságúak az elektrokémiai jelátvitel folyamatában [2]. Ennek fontosságát az a korreláció is jelzi, hogy hosszútávú aktivitás esetén (long term potenciáció (LTP)) a poszt-szinaptikus denzitás mérete megnövekedik, erősebbé válik [3]. A fehérjehálózat reaktív átrendeződését a tanulás és memória fontos folyamatának tekintjük [4]. A PSD fehérjéiben bekövetkező mutációk számos neurológiai kórképpel összefüggésben hozhatók, egyik legfontosabb ezek közül az ASD (Autism Spectrum Disorder). A PSD szerveződésének megértése jelenleg komoly kihívást jelent, mivel kísérleti módszerekkel jelenleg nem tudunk róla nagy felbontású képet kapni éppen változatossága és dinamikus mivolta miatt. Ezért ezen a területen kiemelten fontos modellezési eljárások használata.

1.2 A szinaptom elmélet

A szinaptom elméletet Seth Grant és kutatócsoportja dolgozta ki [5]. Ez az elmélet azt az elgondolást módosítja, bővíti ki, miszerint egyelőre sok biológia tankönyv úgy tartja, hogy a különböző agyi funkciókat a neuronok különböző vezetékékezése okozza. Ennek ellenére a vezetékek, neuron-neuron kapcsolatok nem adnak teljes választ a genetikai eredetű neurodegeneratív rendellenességekre, mint például az Alzheimer és az Autizmus spektrum. A központi dogma szerint a gének közvetlenül a fehérjéket kódolják [6], nem magukat a “vezetékeket”, neuron nyúlványokat, tehát az elmélet szerint a fehérjéknek kell lennie a hiányzó láncszemnek a vezetékek, kódolt funkciók és a gének között [5]. Tehát a szinaptom elmélet szerint az adott neurontípust az expresszálandó fehérjék határozzák meg. Így a fehérjék közvetve befolyásolják az agyi funkciókat és képesek a viselkedést megváltoztatni. Ennek az elméletnek a bővebb megismerését és vizsgálatát tűztem ki PhD Disszertációm céljául számítógépes szimulációk és modellek segítségével, ugyanis az elmélet

érdekessége, hogy kitér magára a tanulás folyamatára is [7]: miszerint a tanulás a szinapszis proteomjának módosításával történik [8], ez nem igényli a szinaptikus súly hosszú távú potenciózását (LTP) vagy az új szinapszisok növekedését, és az elmélet azt jósolja, hogy az LTP modulálja az információ visszahívását [7]. A későbbi háromdimenziós modellezések szempontjából az érdekes, ahogy a Seth Grant is megjegyzi [5]: a szinaptom, fehérjehálózatok térbeli architektúrája abból a mögöttes molekuláris hierarchiából származik, amely a genom által kódolt fehérjék szupramolekuláris összeállításával komplexekké és szuperkomplexekké kapcsolja. Ez a molekuláris hierarchia megmagyarázza, hogy a genom szintjén zajló evolúció hogyan eredményezi a szervezet viselkedési repertoárjának megváltozását. Az ezt megszakító mutációk megváltoztatják a szinaptom fehérjehálózatok felépítését, potenciálisan figyelembe véve a neurológiai és pszichiátriai rendellenességekkel kapcsolatos viselkedési fenotípusokat [9], [10].

1.3 Fehérjekomplexek kialakulásának ágens alapú szimulációja

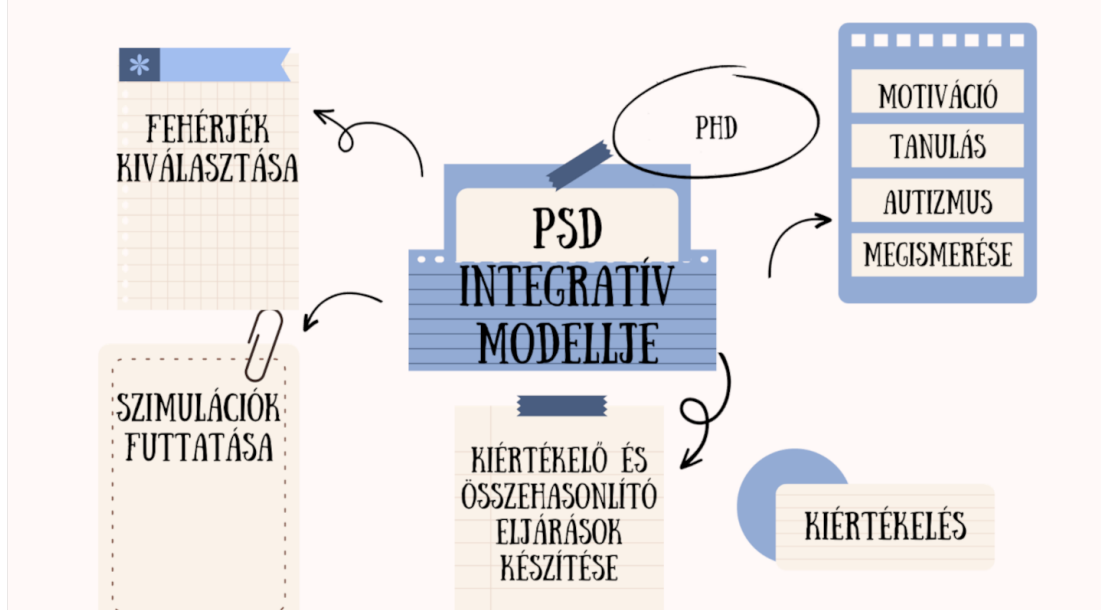
Számos modellező és szimulációs eljárás van, amellyel a neuronban lévő folyamatok megismerhetők, a jelátvivő folyamatok hálózatának logikai leírásától a neuron aktivációs mintáinak modellezéséig [11]. Kutatásom a fehérjekomplexek szintjén vizsgálja a változásokat.

Fehérjekomplexek keletkezését le lehet írni ahhoz hasonlóan, ahogyan egy kémiai reakciót is: két molekula véletlenszerűen mozog, majd találkozik. Ennek során, ha megfelelőek a körülmények, akkor reagálnak egymással és létrejön az új molekula. A szimulációs módszer lényege, hogy a molekulákat ágens alapon mozgatjuk, majd ha elég közel kerülnek, akkor azt találkozási eseménynek tekintjük. A találkozás során adott valószínűséggel létrehozunk közöttük a kapcsolatot (a két különálló fehérjéből egy összeállt komplex lesz - két ágens átalakul egy ágenssé). Ezt az adott valószínűséget biológiailag a kötési erősségek, affinitások írják le. A komplex ugyanakkor a disszociációs állandó által meghatározott valószínűséggel egy következő lépésben szét is eshet.

1.4 Fehérjekomplexek 3D szerkezetének modellezése

Az ágens alapú modellezés legnagyobb hátránya, hogy nagy memóriaigénye lehet, így nem reális, hogy a fehérjék tényleges háromdimenziós szerkezetét ill. az ebből adódó megkötéseket egy ilyen szimulációban reprezentálni tudjuk. Egy fehérje, egy komplex ágens egy adott pontként jelenik meg - mégha kötőhelyei virtuálisan léteztek is. Ugyanakkor fehérjekomplexek szerkezetének, alakjának modellezésére is léteznek használható szoftverek. Munkám során fontos szempontnak tartom, hogy a mennyiségi ágens alapú szimulációk eredményeit és a minőségi 3D-s modellezés eredményeit közösen szemlélhessem és lehetővé tegyem a későbbiekben ezek közös folyamatban történő integrálását.

Az IMP (Integrative Modeling Platform) program nevéből is adódóan az integratív modellezés céljából alkották meg, ami azt jelenti, hogy többféle forrásból származó bemeneti adatot, illetve egy adott rendszer egyes részeinek különböző típusú reprezentációit képes integrált módon figyelembe venni a modellezési folyamat során. A platform lehetővé teszi nagyméretű komplexek háromdimenziós szerkezeti modelljének létrehozását számos adat együttes felhasználásával.

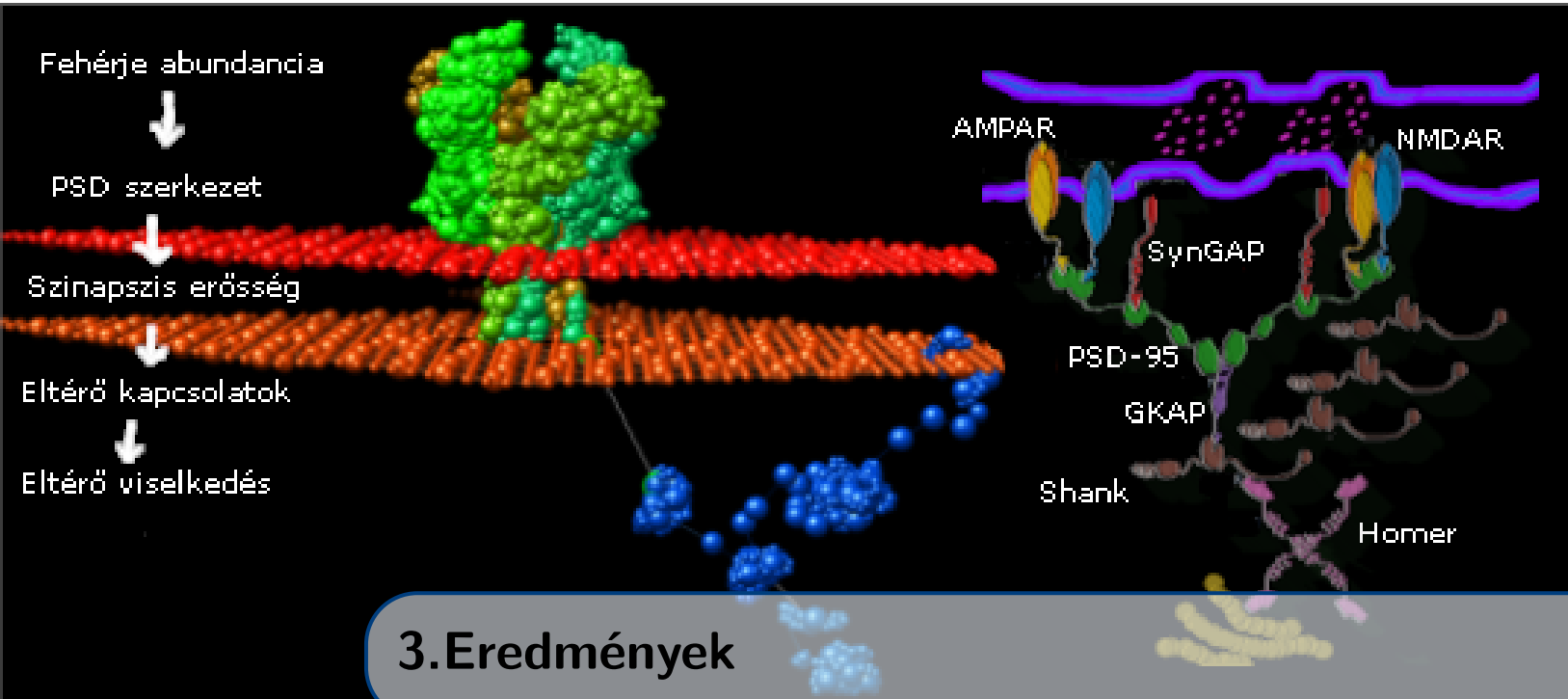


2. Célkitűzések

Kutatásom fő célja a posztszinaptikus denzitás integrált modellezéséhez szükséges alapvető eljárások kidolgozása és alkalmazása volt. Terveim szerint az integrált modellezés segítségével az egyes fehérjekomplexek kialakulásának valószínűségein túl szerkezeti modelleket is készíthetünk, figyelembe véve az egyszerűsített szimulációkból kapott információkat. Ennek megvalósításához az alábbi lépések megvalósítását tűztem ki célul:

- Az igen sok fehérje összetett interakciója által felépülő posztszinaptikus denzitás egyszerűsített, kezelhető méretű modelljének kialakítása, melynek segítségével ágens-alapú szimulációk végezhetőek. Ehhez szükséges a leggyakoribb fehérjék, azok példányszámának és egymással kialakítható kölcsönhatásainak azonosítása és reprezentációja oly módon, hogy az a tervezett szimulációk bemeneteként szolgálhasson.
 - *Miért?* A PSD rendkívül komplex és nagyszámú fehérje kölcsönhatásából épül fel. Egy egyszerűsített, kezelhető méretű modell lehetővé teszi az ágens-alapú szimulációk elvégzését, amelyek segítségével megérthetjük az alapvető mechanizmusokat és interakciókat a PSD-ben.
 - *Miért fontos?* Az ágens-alapú szimulációk lehetővé teszik a PSD dinamikus viselkedésének és a fehérjekomplexek kialakulásának vizsgálatát, ami kritikus a funkcionális megértéshez és a terápiás beavatkozások fejlesztéséhez.
- A modell segítségével elvégzett ágens-alapú szimulációk kiértékeléséhez szükséges eljárások kidolgozása, ideértve a létrejött fehérjekomplexek egyértelmű azonosítását, illetve különböző bemeneti paraméterekkel indított szimulációk összehasonlítását.
 - *Miért?* A szimulációk eredményeinek pontos értékelése kulcsfontosságú a modellek validálása és a predikciók megbízhatóságának biztosítása érdekében.
 - *Miért fontos?* Az eljárások kidolgozása biztosítja, hogy a szimulációk eredményei összehasonlíthatóak és reprodukálhatóak legyenek, lehetővé téve a különböző hipotézisek tesztelését és a biológiai relevancia megértését. A feladat nem triviális többek között azért, mert a lehetséges komplexek száma elméletben végtelen. Adott komplexek eltérése lehet elenyésző, vagy pont kimagasló funkcionalitása miatt.

-
- Nagyszámú szimuláció elvégzése számos különböző bemeneti paraméter felhasználásával irodalmi fehérjegyakorisági adatok segítségével, majd a szimulációk kiértékelése és értelmezése.
 - *Miért?* A különböző bemeneti paraméterek tesztelése segít megérteni a PSD kialakulásának és működésének variabilitását, valamint az egyes fehérjekomplexek szerepét a rendszer stabilitásában és dinamikájában.
 - *Miért fontos?* A széleskörű szimulációk lehetővé teszik a rendszer robusztusságának és érzékenységének vizsgálatát, ami fontos a biológiai rendszerek pontos modellezéséhez és a potenciális gyógyszer célpontok azonosításához.
 - Adott kölcsönhatást gyengítő mutáció hatásának modellezése a keretrendszer használatával.
 - *Miért?* A mutációk hatásának modellezése segít megérteni a genetikai variációk és mutációk hatását a PSD működésére és stabilitására.
 - *Miért fontos?* Az ilyen modellezések segíthetnek azonosítani a potenciális patogén mutációkat és megérteni azok mechanizmusait, ami fontos a genetikai betegségek diagnosztikájában és kezelésében.
 - Mindezekkel párhuzamosan munkafolyamat kidolgozása és tesztelése nagyméretű, többkomponensű poszt-szinaptikus fehérjekomplexek háromdimenziós modellezéséhez.
 - *Miért?* A nagy és komplex fehérjekomplexek térbeli modellezése kihívást jelent, de elengedhetetlen a teljes PSD szerkezeti és funkcionális megértéséhez, hiszen önmagában az ágens alapuló szimulációk csak gráfként tekintenek a komplexekre és éppen ezért a térbeli gátlások és a fehérjék/komplexek térigénye nem jelenik meg.
 - *Miért fontos?* Az ilyen modellek lehetővé teszik a szinaptikus funkciók és a fehérje-interakciók finom mechanizmusainak vizsgálatát, amelyben már térbeli, szerkezetbeli hatások is észlelhetők hozzájárulva a teljes idegrendszeri működés megértéséhez és a potenciális terápiás beavatkozások fejlesztéséhez.



3. Eredmények

3.0.1 A modellrendszer előkészítése

Irodalomkutatás során kísérleti adatokat gyűjtöttem fehérjegyakoriságokra adott alanyok adott agyi régióra lebontva [12]. Ez a hét fehérje a bevezetőben már bemutatott NMDAR, AMPAR, SynGAP, PSD-95, GKAP, Shank3, Homer1. Megfelelő mennyiségű közvetlen adat ezen fehérjék gyakoriságáról azonban nem állt rendelkezésemre, ezért a megtalált mRNS expressziós szinteket kellett átkonvertálnom darabszámokra.

Az irodalomban RNA-Seq kísérletekből származó RPKM (reads per kilobase million) értékeket tartalmazó adatokat találtam a [12] publikációban.

Ezekből az értékekből úgy állítottam elő darabszámra vonatkozó adatokat, hogy a PSD-95 ismert darabszámához viszonyítottam őket.

Kezdetben Shank3-al dolgoztam, majd a mutációanalízisnél Shank1-et vizsgáltam. A Cytocast eljárással végzett szimulációk tekintetében a fehérje doménszerkezetében nem jelent változtatást a domének relatív pozíciója - ezért könnyedén kicserélhető a két fehérje. Az egyes fehérjék becsült gyakorisága nagy eltérést mutat az egyes adatkészletekben. Az átlagos mennyiségek a következők voltak:

A modell alkalmas elsődleges becslés készítésére. A fehérje mennyiségének mRNS

protein	min	max	átlag	szórás
NMDAR	0	95	16.84	17.87
AMPAR	1	688	126.81	78.39
PSD-95	36	1067	328.09	159.21
SynGAP	11	359	1102.21	60.13
GKAP	2	367	82.62	65.50
Shank1	1	388	69.20	59.40
Homer1	1	124	21.98	17.20

3.1. táblázat. A bemenetként használt fehérjegyakorisági adatok átlaga és szórása

expresszióval történő közelítése során figyelembe kell venni, hogy a régiók közötti eltéréseket már az mRNS szintézis szintjén megfigyelhetjük, azonban még a fehérjék translációja során más különbségek, lényeges csoportosulások is kialakulhatnak.

Mindazonáltal a fehérje gyakoriság mellett annak a valószínűsége, hogy két fehérje találkozik egymással függ a szimulációs rács méretétől és a szimulációs időtől is. A legtöbb komplex esetén azt kaptam, hogy 40 ismétlés már elegendőnek bizonyult ahhoz, hogy a sztochasztikus ingadozásokat kisimítsam használható mértékben és a konfidenciaintervallum sugarát 1 db komplexre szűkítsem.

A mutációk hatásainak kiszámítása kötése erősség predikcióval

Munkám során adott mutáció hatását is vizsgálni kívántam, viszont adott mutációt tartalmazó fehérjére (ill. fehérjedoménre) vonatkozó kísérleti kötési adat nagyon ritkán áll csak rendelkezésünkre, ráadásul a Gillespie algoritmus külön kezeli az asszociációs és disszociációs rátákat, amelyekre vonatkozóan vad típusú fehérjék esetében is alig van adatunk. Egy mutáció partnerkötésre vonatkozó közvetlen hatása nem könnyen becsülhető, viszont több olyan módszer is elérhető, amelyek adott fehérje stabilitásának megváltozását becslik, így ebből kiindulva próbáltam meg a kötési állandókat módosítani a szimulációs rendszerben.

A pontmutáció megváltoztathatja a fehérje stabilitását, ezért módosítja a fehérje hozzáférhetőségét. A biológiailag releváns pontmutációk stabilitásváltozását ($\Delta\Delta G$) a NeEMO [13] segítségével számítottam ki.

A kötés disszociáció aránya ($K = \frac{[\text{denaturated}]}{[\text{naturalated}]}$) a $\Delta\Delta G$ -ból származtatható. A változási arány azt mutatja meg, hogy a disszociációs ráta hogyan változik a mutáció által a megjósolt $\Delta\Delta G$ értékeknek megfelelően.

$$\Delta\Delta G = -RT \ln(K_{WT}) + RT \ln(K_{MT}) \quad (3.1)$$

$$\text{változási_arány} = \frac{K_{MT}}{K_{WT}} = e^{\frac{\Delta\Delta G}{RT}} \quad (3.2)$$

A modellemben a komplexképződés valószínűsége fordítottan arányos a disszociációs ráta (K) változásával. Ennek megvalósításához a paraméterkészletben a disszociációs állandót módosítottam.

A Shank1 R743H mutáció kiválasztása és modellezése

A specifikus modellezési célunkra a Shank1-ban található R743H mutációra esett a választásom. Bár a COSMIC[14] adatbázisból választottam ki, amely rákos megbetegedésekkel kapcsolatos mutációkat tartalmaz, szándékom az volt, hogy egy jól leírt mutációt használjunk egy olyan globuláris tartományban, amely egy, a modellünkben szereplő és szerkezeteileg jól karakterizált interakcióra lehet hatással. Esetünkben ez a Shank1 PDZ doménje és a GKAP C-terminális régiója közötti kapcsolat. A mutáció komplexképződésre gyakorolt hatását a fentiek szerint a PDZ domén destabilizálódásából becsültem a NeEMO [13] eljárással. Eszerint a mutáció a Shank1:GKAP komplex disszociációs sebességének 5,5-szeres növekedését okozza.

3.0.2 Az ágens-alapú szimulációk értékeléséhez kidolgozott eljárások

Az adatok eloszlása nem egységes abból a szempontból, hogy vannak olyan agyi régiók, amelyekre vonatkozóan nem állnak rendelkezésre adatok az összes betegről. Emiatt minden kísérletet külön-külön kell kezelni, és arra törekedtem, hogy azonosítsam az eredmények közötti főbb különbségeket.

Homomultimer fehérjeasszociátumok azonosítására egy külön algoritmust hoztam létre. Erre azért volt szükség, hogy a nagyobb komplexek esetében is átfogó képet kapjunk arról, hogy az adott multimerizálódni képes fehérjék hogyan, s miképpen ragasztották össze az akár 100-as fehérjeszámot elérő komplexeket.

Az azonos fehérjéből álló fehérjeasszociátumok megtalálásakor elsősorban meg kell határozni, mely fehérje képes multimerizálódni láncszerűen. Az én tesztrendszeremben pl. a Shank3 fehérje rendelkezik ilyen tulajdonsággal az irodalomban leírt, SAM doménre jellemző asszociációja miatt [15].

Ezen fehérjéket az egyedi azonosítójuk (ID) alapján meg lehet keresni a fehérjekomplexekben és azon interakciókat azonosítani, amelyekben mindkét, egymással kölcsönhatásba lépő fehérje az adott proteinnak felel meg. Ezután lehet azonosítani a fehérjékből mint egységekből felépülő láncokat.

A szimulációk hozzáadott információtartalmára utaló mérőszám meghatározása

Az általam elvégzett vizsgálatok egyik célja az volt, hogy megvizsgáljam, hogy a létrejövő fehérjekomplexek eloszlása – mint a szimulációk kimenete – hogyan függ az elérhető – a szimulációkban bemenetként megjelenő – fehérjegyakoriságtól. A kérdés egyik általános vonatkozása, hogy a bemenetekből triviálisan következik-e a kimenet, vagy a kettő közötti összefüggés olyan bonyolult, hogy szimuláció nélkül nem lehet nagy biztonsággal becslést tenni adott bemenet esetén a kimenetre. Ennek eldöntésére megvizsgáltam, hogy a bemeneti és a kimeneti adatsorok ugyanazt a mintázatot adják-e az egyes régiókra (bemeneti adatkészletekre) vonatkoztatva.

A K-means clustering [16] eljárás az egymáshoz hasonló adatokból csoportokat hoz létre. A vektorterekben ez a tulajdonság azt jelenti, hogy a közelebbi pontok ugyanabba a klaszterbe kerülnek. Ezután minden klaszterhez létrehoztam egy-egy címkézett vektort. Az 524 hosszú vektor minden eleme egy vizsgált régiót reprezentál, és a koordináta 0, ha az adat nincs a klaszterben, és egy, ha az adat a klaszterben van (ún. one-hot reprezentáció). Arra használjuk, hogy két különböző klaszterezés esetén az egyes klaszterek mennyire az egyes régiók ugyanolyan csoportosítását jelenítik meg, például bemeneti és kimeneti adatok alapján.

Ha a bemeneti és kimeneti klaszterek keresztávolsága elég nagy, akkor az összesített szimuláció olyan további információkat tartalmazhat, amelyek magukban a bemenetekben nem láthatóak. Az eljárás használható mind az interakcióbőség alapján definiált kisebb, hatdimenziós, mindpedig az egyes komplexek abundanciája alapján definiált sokdimenziós kimeneti komplexvektorteret használva is.

A legmagasabb információtartalmú komplex azonosítása

Az adatok értékelése során felmerült az igény arra, hogy meghatározzam azt a komplexet, amelyeknek a gyakorisága a legtöbb információt hordozza, azaz a leginkább hozzájárul a kapott fehérjekomplex-eloszlások közötti eltérésekhez. Ennek meghatározására egy főkomponens-elemzésen alapuló mérőszámot határoztam meg.

Az agyi régiókat egy többdimenziós térben lévő pontokként reprezentáltam, ahol minden koordináta egy adott fehérjekomplex gyakoriságát jelenti.

Egy adott agyi régió fehérjekomplex eloszlását lineáris kombinációként az alábbiak szerint határozzuk meg:

$$c \in \mathbb{R}^n, \quad c = \sum_{i=1}^n \alpha_i p_i \quad (3.3)$$

ahol az α_i az az i . komplex (p_i) gyakorisága (példányszáma).

Mindegyik komplex jellegzetes gyakorisági profillal rendelkezik a különböző régiókban: a legváltozatosabb abundanciájú komplexek mutatják a legszembetűnőbb különbségeket a régiók között. Így a legváltozóbb komplexek határozzák meg a rendszer fő összetevőit.

Az egyes komplexre vetített varianciát úgy számítjuk ki, hogy az egyes főkomponensvektorok által reprezentált varianciát megszorozzuk az illető komplex mint bázisvektor adott főkomponenshez való hozzájárulásával, majd ezeket minden főkomponensre összegezzük. A kapott relevancia megadja, hogy az adott komplex gyakorisága mennyire meghatározó az egyes régiók közötti különbségek meghatározásában.

$$r \in \mathbb{R}^n, \quad r = \sum_{i=1}^n \frac{\lambda_i}{\sum_{j=1}^n |v_{ij}|} v_i \quad (3.4)$$

Ahol r az egy n dimenziós vektor, ami tartalmazza az összes komplex relevanciáját, λ_i az i . sajátvektor relevanciája, v_{ij} az j . koordinátája az i . sajátvektornak (v_i).

Fehérjekomplexek gyakoriságának összehasonlítása

A páros T-próba egy klasszikus statisztikai próba, amelyet általában akkor választanak, ha csak egy változás - esetemben pl. a vizsgált Shank1 R743H mutáció - lehet jelen létre a rendszerben, és a kérdés az, hogy a változás hogyan befolyásolta az adott változó átlagértéket. A nullhipotézis: az átlagos abundanciák (vad típusú és mutáns) adott szignifikancia szint mellett azonosak. Így az alternatív hipotézis: egy komplex átlagos abundanciái jelentősen eltérnek. Egy adott komplexre a T-próbát a módszerekben ismertetett módon hajtottam végre.

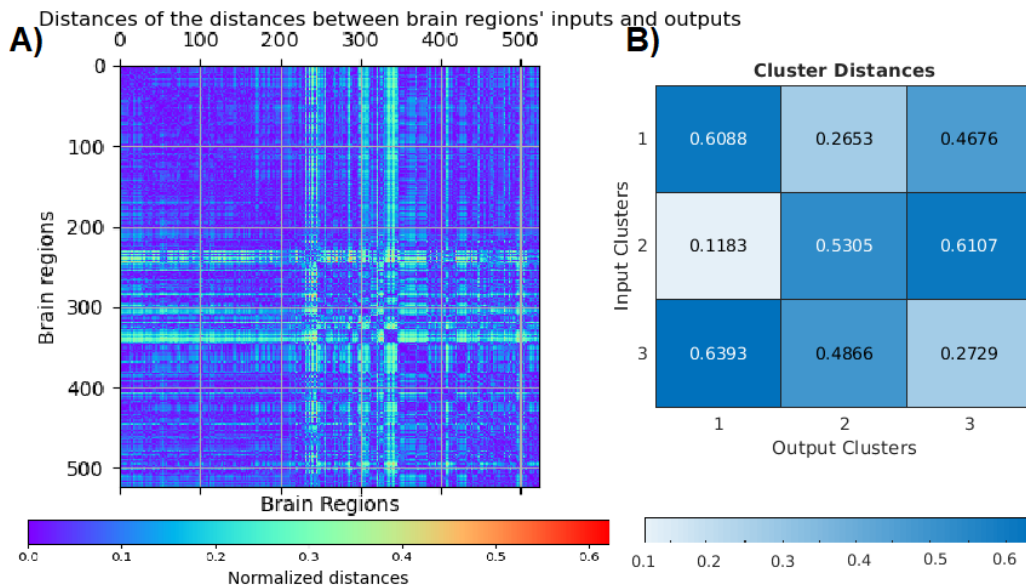
Tekintettel arra, hogy a szimuláció során az egyes komplexek abundanciáját külön-külön átlagoljuk, a T-próba, hogy melyik hipotézist fogadhatjuk el, csak az adott komplex abundanciájára vonatkozik. Ahhoz, hogy egy adott régióról általánosságban meg tudjuk mondani, hogy változott-e, minden komplexen el kell végeznünk a T-próbát, és ezek súlyozott átlaga jelzi, hogy az adott régióra átlagosan melyik hipotézist tudjuk elfogadni. Az átlagolás során az egyes komplexek ismert fontosságát használjuk fel, amelyet az egyes komplexek relevanciája alapján számítunk ki. A jellemző fontossága (feature importance) a T-próbával számított p-értékek átlagolásának súlya egy adott régióban minden komplexre.

$$\text{averaged p-value of a region} = \sum_{i=0}^{39} \text{complex_relevance}_i \cdot \text{p-value}_i \quad (3.5)$$

3.0.3 A szimulációk elemzése és létjogosultsága

Adott szimulációpár bemeneti és kimeneti távolságának különbsége pontosan megmutatja, hogy mely agyi régiók, azaz szimulációk relatív helyzete változott meg a bemeneti helyzetekhez képest (3.1. ábra). **Ezáltal ki is tudtam emelni azokat a régiókat, amelyekben a legtöbb hozzáadott információ jelenhetett meg. Ezek a régiók: H376.VIII.51_STC id:340, H376.VI.50_V1C id:286, H376.IX.51_MFC id:238.** Az ID azt mutatja meg, hogy hányadikként végeztem el a szimulációkat, egyes ábrákon van szerepe. Az alulvonás előtti kód az alanyt jelenti, amelyből származik az agyi szelet, míg az alulvonás utáni háromkarakteres kód a konkrét agyi régióra utal. STC:posterior (caudal) superior temporal cortex (area 22c), V1C:primary visual cortex (striate cortex, area V1/17), MFC: anterior (rostral) cingulate (medial prefrontal) cortex.

A bemeneti fehérjék abundanciájának arányait összevetettem a kimeneti komplexek arányaival, vagy a bennük található létrejövő páronkénti fehérje-fehérje kölcsönhatások relatív gyakoriságával.



3.1. ábra. **A régiók egymáshoz képesti relatív elmozdulása hőterképen és a klaszterezés eredménye.** Az egyes régiókat mind bemenet, mindpedig kimenet alapján elhelyeztem egy adott vektortérben. Így a régiók relatív helyzete megmutatja, hogy két régió mennyire hasonlít egymáshoz, bemenet esetén a fehérjék mennyiségét tekintve, kimenet esetén az adott komplexek mennyiségét tekintve. Elmozdulás alatt azt értjük, hogy két régió a bemeneti helyzetükhöz képest közelebb vagy távolabb került egymástól a kimenet alapján megalkotott vektortérben. Sok esetben alig láthatunk változást, mert a legtöbb rész kék, mindazonáltal akadnak a pirosba is eső pixelek. A klaszterezés során nem egyértelmű, hogy melyik klasztert melyiknek érdemes megfeleltetni, ezért a legközelebbi klasztereket feleltettem meg egymásnak és azok között kerestem a megváltozás arányát.

Az elvégzett szimulációk azt mutatták meg, hogy a felbukkant komplexek gyakorisága nem csak a kezdeti fehérje mennyiségtől függ, hanem a lehetséges kötéseknek is jelentős hatása van rá. Egy bizonyos fehérjét tartalmazó komplex gyakorisága inkább függ a fehérje

szomszédainak gyakoriságától, mint magától az adott fehérje gyakoriságától.

A bemutatott példák a hasonló fehérjekészlettel rendelkező, de a komplexeket eltérő eloszlásban tartalmazó régiókra azt sugallják, hogy a kiválasztott fehérjék lokális szintézise és lebomlása a fehérjekomplexek olyan mértékű újraeloszlásához vezethet, amely jelentősen megváltoztathatja a szinapszis „azonosságát”. A helyi mRNS transzláció jelenléte a dendrittüskékben, amelyek többek között PSD-fehérjéket termelnek, jól ismertek, és számos neuronális folyamattal, például késői fázisú LTP-vel [17] összefüggésbe hozhatók. Hasonló komplexeloszlások érhetők el az alkotó fehérjék különböző kombinációival, ami lehetőséget biztosít a funkcionálisan hasonló állapotok elérésére.

Az AMPAR/PSD-95/SYNGAP komplex a leginformatívabb

Főkomponens-elemzés segítségével azonosítottam, hogy mely komplexek a leginformatívabban az agyi régiók megkülönböztetése szempontjából. Az első két fő komponens mind a vad típusú, mind a mutáns esetben a kimenetek teljes varianciájának 44%-át, illetve 24%-át fedti le. Az első fő tengelyt az AMPAR/PSD-95 (id:12) komplex mennyisége uralja, míg a másodikat a PSD-95/SynGAP (id:8) komplex.

Összességében a leginformatívabb komplex – az összes főkomponenset és az általuk magyarázott varianciát tekintve a legnagyobb hozzájárulással – az AMPAR/PSD-95/SynGAP (id:5) 19% hozzájárulással. Összehasonlításképpen, az átlagos komplex jelentőség nagyon kicsi, megközelítőleg $4,48e-06$, a medián pedig $9,98e-08$. Az alacsony mérték oka a lehetséges komplexek nagy száma – így a valószínűségi mérték nagy elemi eseményhalmazon osztozik eredendően is. Az, hogy a AMPAR/PSD-95/SynGAP komplex jelentősen befolyásolja a régiókat összhangban van az irodalomban fellelhető információkkal, SynGAP kötése regulálja az AMPAR kötésének gyakoriságát [18].

3.0.4 Hipomorf mutáció hatásának vizsgálata

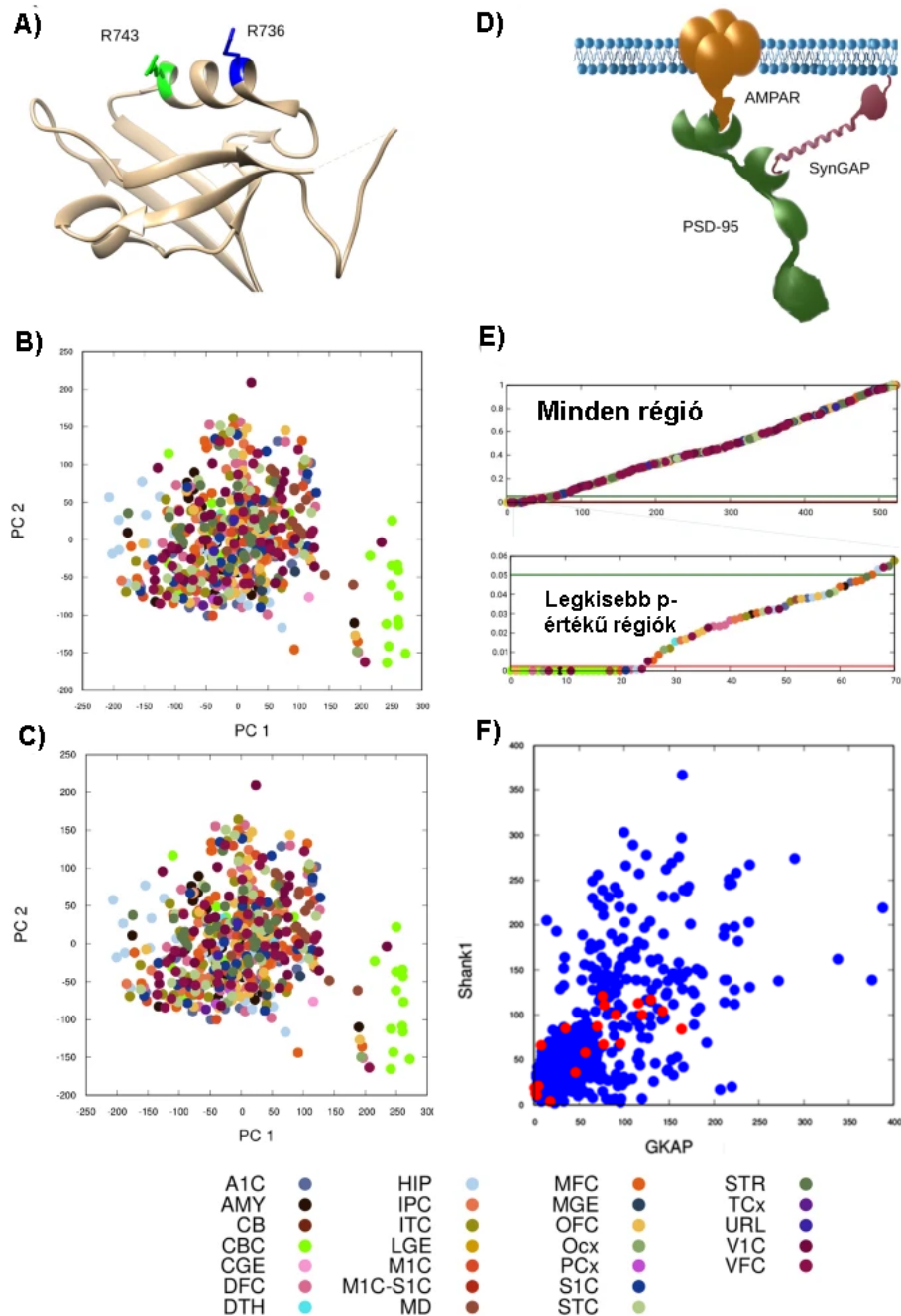
A mutációk specifikus hatása rejtélyes lehet, különösen akkor, ha számos különböző szövetben jelenlévő fehérjéket érintenek. Ez különösen igaz azokra a sejttípusokra, amelyekben még a főbb partnerek és interakciók is azonosak. A neuronok sokfélesége a posztszinaptikus fehérjék eltérő mennyisége szempontjából egyedülálló lehetőséget kínál specifikus mutációk hatásának feltárására egy összetett, de mégis leegyszerűsített többkomponensű rendszerben, amely azonos építőelem-készlettel rendelkezik.

A hipomorf Shank1 mutáció elemzésére futtatott szimulációk esetében ugyanolyan kiindulási fehérjegyakoriságokat használva futtatunk szimulációkat a vad típusú és a mutáns esetre is. A mutáns esetben homozigóta állapotot feltételeztem, tehát vagy csak vad típusú, vagy csak mutáns fehérje volt a rendszerben.

A vad típusú és mutáns forgatókönyvek szimulációs eredményeinek főkomponens-analízise nagyon hasonló összképet mutat. A két PCA diagram közvetlenül összehasonlítható, mivel a tengelyek még a két független PCA kimenetben is megegyeznek. A vad típusú és mutáns eseteknek megfelelő adatpontok csak minimálisan térnek el egymáshoz képest. A vad típusú és a mutáns régiók közötti átlagos távolság $1,5 \pm 0,8$ egység.

Megjegyzem, hogy a PCA általában nem különíti el az adott agyi régiókat (ábra 3.2), ezen szimulációk esetében azonban a cerebelláris kéreg típusú régiók azonban jól elkülönülnek a többtől.

Eredményeim arra utalnak, hogy a teljes fehérje komplex eloszlást elsősorban az egyes fehérjék elérhetősége határozza meg, és a vizsgált hipomorf mutáció jelenléte nem okoz



3.2. ábra. **Mutáció hatása a szimulációra nézve:** **A)** A kiválasztott mutáció (R743H, zöld) és egy hasonló, az ASD-ben jelentett mutáció (R736Q, kék) pozíciója a Shank1 PDZ tartomány szalagábrázolásán (PDB ID 6YWZ). Mindkét arginin a ligandumkötő barázdát szegélyező $\alpha 2$ hélixen található. A kapott fehérje komplex eloszlások főkomponens-analízise a **B)** vad-típus és **C)** mutáns szcenáriók esetében. A különböző színek a különböző agyi régiókat jelölik az alján található kulcsnak megfelelően. **D)** A PCA szerinti leginformatívabb komplex sematikus ábrázolása (AMPA/PSD-95/SynGAP). **E)** p -értékek, amelyek leírják a mutáció változását a leginformatívabb komplex esetén. A vonalak a 0,05-ös és a korrigált 0,01-es szignifikanciahatárt jelölik. Színek agyi régiók szerint az alján található kulcs szerint. **F)** A mutáció által érintett két fehérje, a Shank1 és a GKAP bősége a bemeneti adatkészletekben. Piros körök jelzik azokat az adatsorokat, ahol a leginformatívabb komplex bősége jelentősen megváltozott a kimenetben. Az ábra publikálásra került cikkemben [19].

jelentős globális hatásokat. Ez összhangban van azzal, hogy a rendszer megtartja általános funkcionalitását. A mutáció hatásának részletesebb elemzése érdekében megvizsgáltuk az egyes fehérjekomplexek abundanciáját.

3.0.5 A komplexek háromdimenziós vizsgálata

Az eljárás két, párhuzamosan futó részből áll, amelyeket később lehet integrálni egy közös modellben - eképpen a Kar két kutatócsoportjának munkáját is összeköti a folyamat. Az egyik irányvonal fehérjekomplexek kialakulásának nagyskálás szimulációja Gillespie algoritmussal, az eljárás másik irányvonala a térszerkezeteken és a szekvenciák annotációin alapszik és figyelembe veszi az egyes fehérjék mint alkotóelemek háromdimenziós jellegét. Ebben az esetben a fehérjékből gyöngysormodellt hozunk létre, ezáltal egy valódi kiterjedéssel rendelkező objektumként tekintünk rá. Arra jutottam, hogy a két irányvonal ötvözése nem triviális, de egymásból származó ismeretekkel vegyíthető. Megmutattam, hogy becsülhető a nanoklaszterek térigénye és, hogy a rendezetlen/ismeretlen fehérje régiók kezelése összetett folyamat, mely nagyban befolyásolja a modellt.

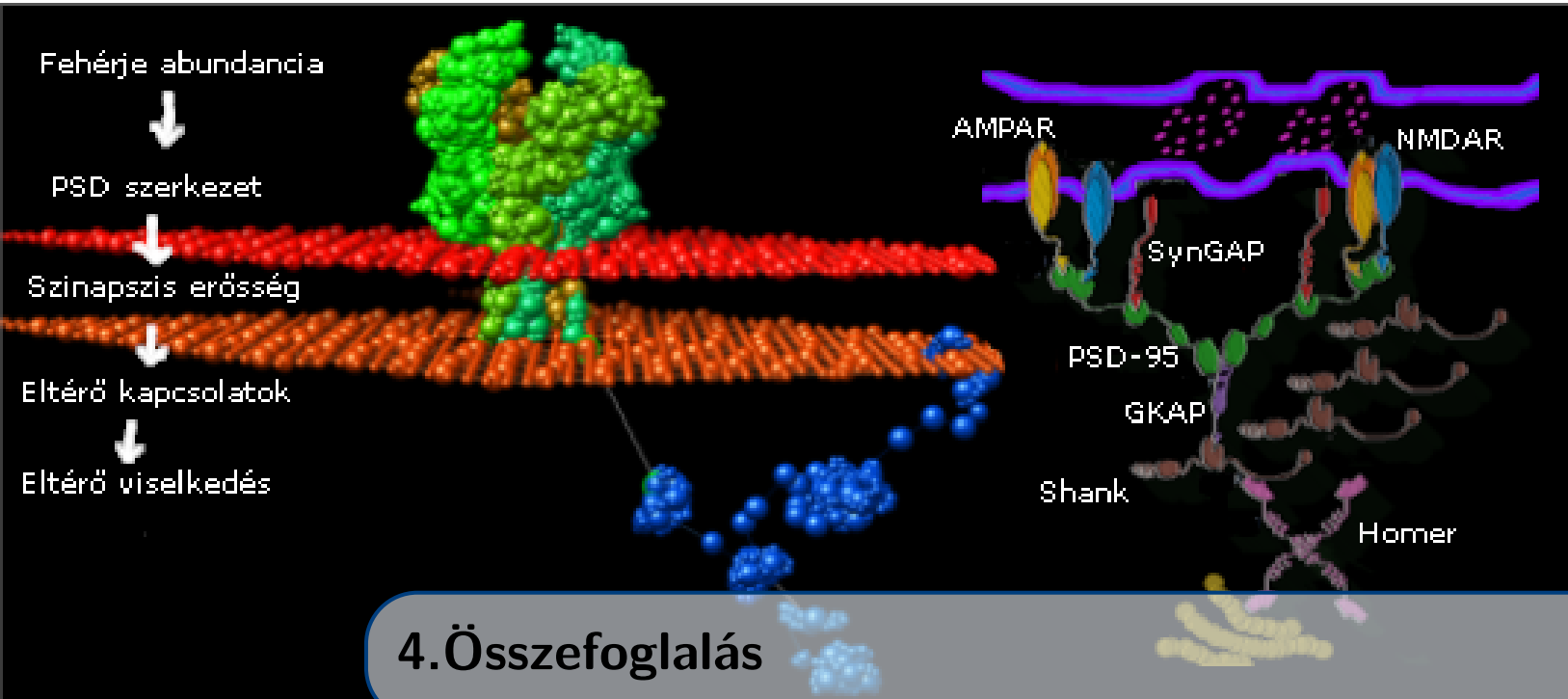
A fentebb vázolt eljárás egyes részei természetesen már korábban leírt és jelenleg is alkalmazott lépések, az egész folyamat és a kétféle modellezési megközelítés összekapcsolása azonban tudomásom szerint ebben a formában nincs még leírva.

Összességében az újdonságérték a két módszer vegyítése és a két kutatócsoport eredményeinek közös felhasználása.

Az első fehérje, amely esetében a teljes 3D szerkezeti modell összerakását megkezdtem, a PSD-95 volt. Az összerakás során azt tapasztaltam, hogy a fehérje terminális szakaszait így is nehéz megjeleníteni térszerkezet hiányában, mert a fehérjeszekvenciák alapján létrehozott kezdetleges szerkezeti modellek nem lettek megbízhatóak, mert számos helyen jelentősen eltértek a torziós szögek az elfogadott tartományoktól. Az IMP eljárás segítségével épített modellekből megállapítottam, hogy egy PSD-95 70-75Å között hidal át két Kir2.1 molekulát a PDZ tandem keresztül. A PDZ doméneket hengerként tekintve azt kapjuk, hogy a A PDZ domain átlagos hossza 31Å és a sugara 7Å a ?? ábrán lilával látható. Ez lehet az egyik korlát, amiért a 35Å-nál magasabb távolságok esetében a káliumcsatornák között a PSD-95 ingázik [20].

Egy NMDA receptort is modelleztem az elérhető kísérleti szerkezet alapján (lásd ??): 6MM9. Ez a struktúra két NMDAR1 (gén: Grin1) és két NMDAR2A (Grin2A) alegységből áll. Az NMDAR2A alegység C-terminálisa képes kötődni a PSD-95 PDZ1-2 tandem doménjéhez.

Az NMDAR2A alegység C-terminális szegmensét (a 800-1400. aminosavakat) kis felbontással, nagyobb mobilitást megengedve (floppy representation) modelleztem, mivel erre a szakaszra rendezetlenség miatt nincs elérhető kísérletes szerkezeti modell. A túl hosszú rendezetlen régió kezelése optimálást igényel a komplex modellezés során, és még nem találtam teljes mértékben kielégítő megoldást. A komplex szimulációja és a terminális szakasz mozgása a terminális régió gyöngysormodelljének kompaktabbá válást eredményezett, ugyanakkor alig változtatta meg a terminális végének térbeli helyzetét, ezért szükséges a beállítások további tesztelése.



4. Összefoglalás

4.1 Megközelítem indoklása

A mindössze hét PSD fehérjét tartalmazó, specifikus térbeli szerveződés nélküli modellünk határozottan egy nagyon leegyszerűsített modell, amely távol áll a poszt-szinapszis tényleges biológiai összetettségétől. Ezenkívül az egyszerűség kedvéért minden esetben olyan helyzetet veszünk figyelembe, amely homozigóta forgatókönyvek felel meg, azaz ahol egy adott fehérjének vagy csak a vad típusú, vagy csak a mutáns változata van jelen, de mindkettő egyszerre nincs. Végül, de nem utolsósorban, a kiválasztott mutációnak csak egyetlen jól definiált hatását modelleztük, figyelmen kívül hagyva az olyan lehetséges pleiotróp hatásokat, mint például a többi fehérje expressziós szintjének megváltozása, amint azt pl. számos Shank-mutációnál megfigyelték [21]. Így nem várható, hogy a kapott fehérjekomplex-eloszlásokat közvetlenül össze lehessen hasonlítani az *in vivo* helyzetekkel. Mindezen szempontok elfogadható pontosságú modellezése sokkal több adatot igényelne annál, mint amennyi jelenleg rendelkezésre áll. Mindazonáltal azt állítom, hogy a fő PSD fehérjék és kölcsönhatások jól meghatározott halmazára összpontosító modellrendszerünk elég összetett ahhoz, hogy megragadja a kidolgozott fehérjehálózatok viselkedésének általános aspektusait, miközben kezelhető marad az adatelemzés szempontjából, mivel a modellben a lehetséges fehérjekomplexek száma még nem rendkívül magas. Megfontolásaim szerint a genotípusok és a fenotípusok – itt fenotípus alatt a szinapszissok identitásának meghatározásához funkcionálisan közelebb álló fehérjekomplex-eloszlásokat értve – mechanisztikus összekapcsolása, ahol a különböző genotípusok hasonló fenotípusokhoz vezetnek, csak kísérleti adatok és modellezési megközelítések kombinációja révén lehetséges.

4.2 A PSD-komplexek modelljei – milyen messze vagyunk a valóságtól?

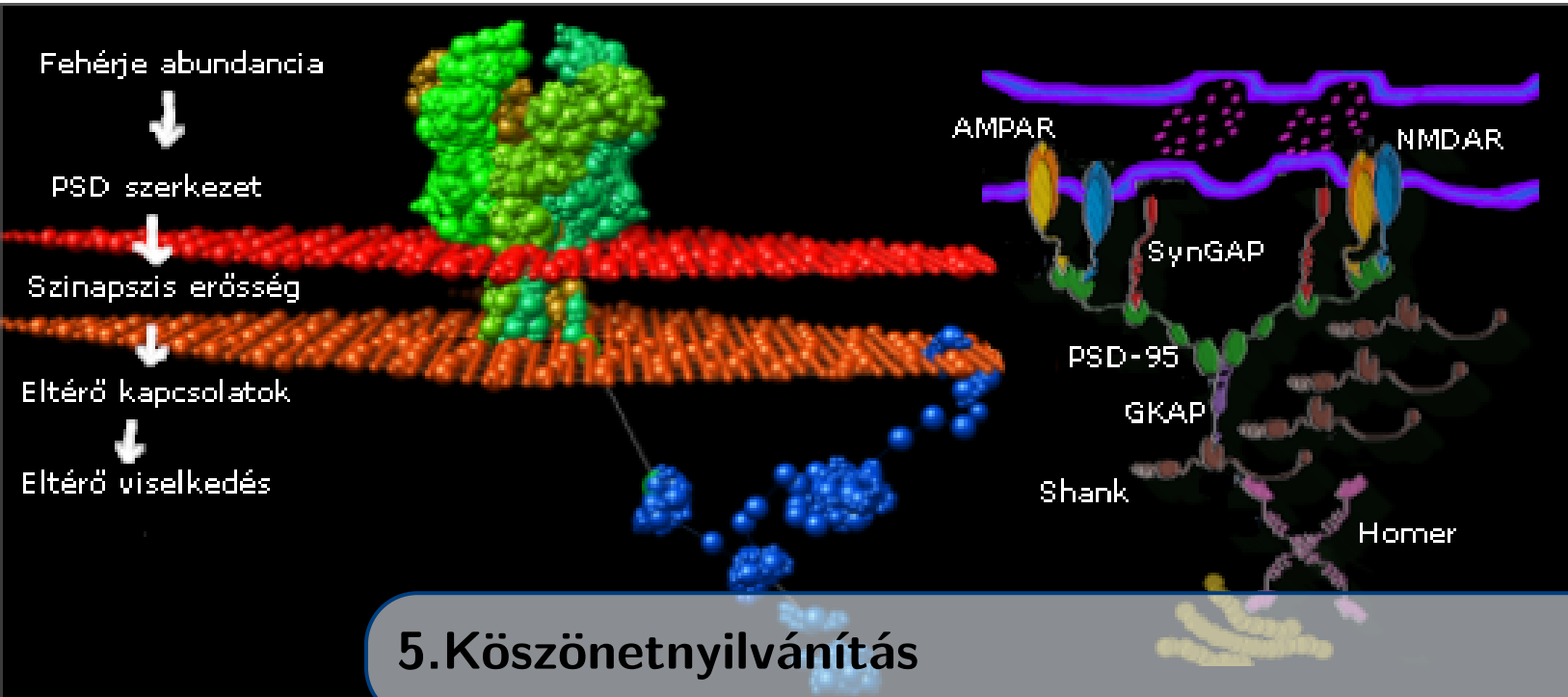
Az mRNS-expressziós adatok lineáris skálázásával becsült fehérjekópiaszámok nem veszik figyelembe a translációs és poszttranszlációs szabályozó hatásokat [22]. Az ilyen hatások a komplexek nagyobb eltérését eredményezhetik az agyi régiók között. Ideális esetben közvetlen fehérjegyakorisági adatokra lenne szükség a valósághűbb szimulációs eredmények

eléréséhez. Ilyen adatok adott képpalkotó – mikroszkópos – technikák segítségével nyerhetőek. Ezek a képpalkotó technikák az mRNS adatokhoz hasonló arányokat mutatnak, mint a validálás, de a dimenziók nem pontos fehérjeszámok, hanem voxelek és intenzitások [23], és az ilyen jellegű adatokból lényegesen kevesebb áll rendelkezésre, mint a nagyobb skálán generálható mRNS expressziós adatokból. A PSD szerveződésének részletes leírása továbbra is kihívást jelent. Bonyolítja a mérete, az alkotó fehérjék száma és variációi, és legfőképpen a változó sztöchiometria és dinamikus jellege. Bár nagy felbontású kísérleti adatok állnak rendelkezésre a bináris komplexekről, ezek jellemzően csak a kölcsönható doméneket és szegmenseket tartalmazzák. Alapvető feltételezésünk, hogy a szimulációk kiegészíthetik a kísérleti adatokat, és jelentős mértékben hozzájárulhatnak a PSD természetének megértéséhez. Az itt bemutatott modellezési megközelítés egy első közelítés, amely elsősorban a fehérjegyakoriságok változékonyságára összpontosít, és csak egy hét PSD fehérjéből álló rendszert vizsgál, és mindegyiknek csak egyetlen izoformája (vagy mutáns változata) található meg benne, így ez a teljes PSD-nek egy erősen leegyszerűsített részhalmaza. Így összetettsége távol áll a PSD tényleges szerveződésétől. Következésképpen eredményeim nem fordíthatók át közvetlenül a PSD-ben ténylegesen megjelenő komplexek valós eloszlására a különböző neuronokban. A pontosabb szimulációkhoz kvantitatív adatokra lenne szükség a közvetlenül fehérjeszinten található mennyiségekre, megfelelő kötési állandókra és a komplexek 3D-s szerveződésének figyelembevételére, valamint a poszt-szinaptikus régió belüli lokalizációjára. Emellett a komponensek dinamikus cseréje, az új fehérjék hozzáadásának térbeli iránya, valamint a fázisszeparáció jelensége mind olyan kérdések, amelyek várhatóan hozzájárulnak a komplexek tényleges eloszlásához *in vivo*.

Szimulációim ugyanakkor már támpontokat adnak a főbb PSD-fehérjék közötti legrelevánsabb összefüggésekre, és rávilágítanak az adott fehérjék hozzáférhetőségében bekövetkezett változásokra. Így bár a modellek nem közelítik meg a valós eset bonyolultságát, megközelítem alkalmas arra, hogy átfogó képet adjunk a PSD főbb szervezőelveiről.

4.3 Kutatásom kilátásai: lehetséges hosszútávú irányai és kibontakozása

Az ebben a tézisben foglaltak számos módon kibővíthetőek, és szeretnénk is kibővíteni azokat. Kutatásom fő mozgatórugója, hogy összefüggő, átfogó képet kaphassunk a poszt-szinaptikus denzitáshoz, melyhez a kutatócsoport munkája is hozzájárul. Ebbe munkám kezdetleges betekintést nyújt. Eképpen, ahogy halad előre a kutatócsoport, úgy adott rész kutatás eredményeit integrálni lehet a kidolgozott eljárási folyamat segítségével. Pontosíthatóak kötési állandók, új mutációk figyelhetőek meg, szerkezeteken lehet javítani. Megfigyelt sztérikus gátlásokat implementálhatunk. Belső dinamikai információkkal változtathatjuk a domének elérhetőségét - számos konformációt modellezhetünk. Bővíthetjük a fehérjék számát. Kompetíciókat vizsgálhatunk meg. A modell kibővítése kihívásokkal teli folyamatos utazás, amellyel új és eddig kevésbé értett nézőpontból tekinthetünk erre a komplex fehérjehálózatra. Számos új biológiai folyamatot fontolhatunk meg és adhatunk modellünkhöz, hogy közelebb kerüljünk a natív biológiai rendszerekhez - kezdve foszforilációk hatásától, fehérje lebomlason át külső expressziós szinteket befolyásoló tényezőkig.



5. Köszönetnyilvánítás

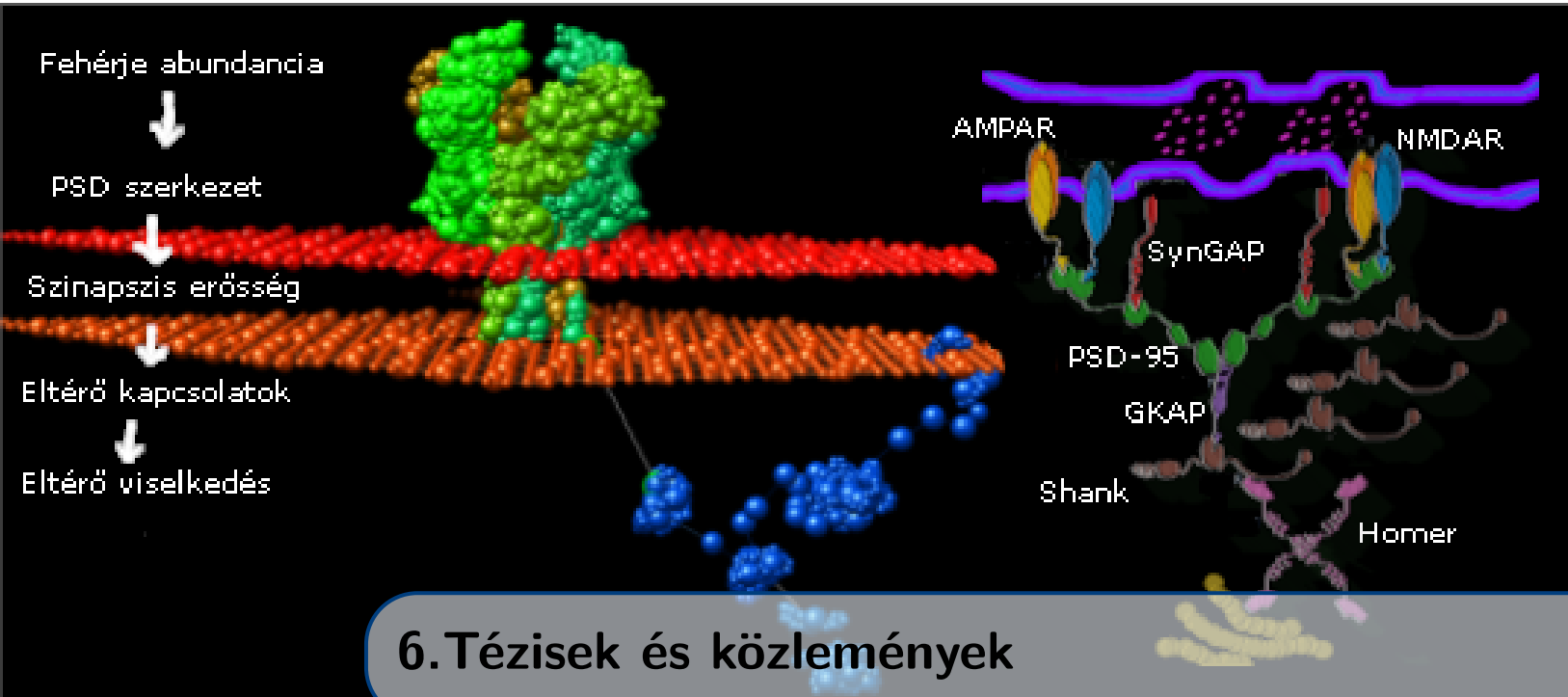
Molekuláris grafika és analízis a the Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics at the University of California, San Francisco által az NIH P41-GM103311 támogatásával fejlesztett UCSF Chimera segítségével történt. A gráfos borítóképek a STRING adatbázis segítségével készültek.

A kutatást az Európai Unió finanszírozta, az Európai Szociális Alap pedig társfinanszírozta EFOP-3.6.2-162017-00013 támogatási szám alatt. A kutatás a Nemzeti Innovációs, Kutatási és Fejlesztési Hivatal OTKA 124363, 137947 és TKP2021-EGA-42 számú pályázati támogatásával valósult meg.

Szeretnék köszönetet mondani számos embereknek a kutatásomhoz való hozzájárulásukért. Projektvezetőimnek: Csikász-Nagy Attilának és Gáspári Zoltánnak a felügyeletükért és útmutatásaikért. Köszönöm Komjáti Kornélnak, aki nagy segítségemre volt az IMP alapjainak elsajátításában. Szeretném megköszönni Keömley-Horváth Bence Márk munkáját és, hogy használhattam az általa készített Cytocast szoftvert.

Továbbá szeretném megköszönni Vida Tivadarné Katinkának a sok sok fáradhatatlan munkát és megértést, amivel segített eligazodni a papírmunka rejtelseiben.

Szeretném megköszönni asztaltársaságomnak a támogatást. Hálás köszönetem kiterjed családomra a sok kitartásukért, türelmükért. Különösen édesanyámnak, Fekete Ágnesnek köszönöm a segítő gondolatait és kérdéseit.

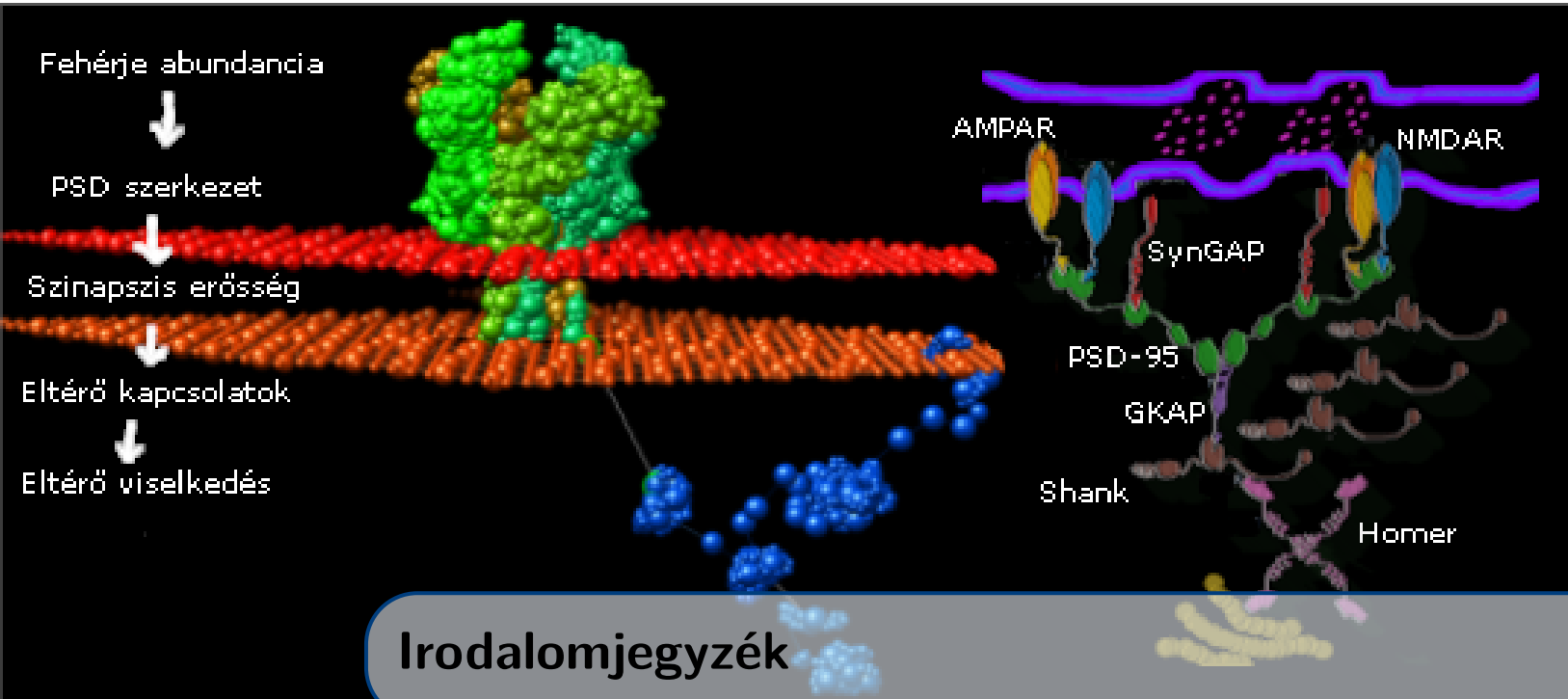


6. Tézisek és közlemények

1. Irodalmi adatok alapján előkészítettem a posztszinaptikus denzitás (PSD) fehérje-hálózatának leegyszerűsített modelljét, mely 7 fő fehérjét tartalmaz és bemenetként használható fehérjekomplexek eloszlását szimuláló rendszerbiológiai számításokhoz. Expressziós adatok alapján a hét fehérjét összesen 524 különböző gyakorisági összetételben vizsgáltam a Cytocast szoftver segítségével. (Miski et al. 2022, [1])
2. Eljárásokat dolgoztam ki a PSD modell szimulációiból kapott fehérjekomplex-eloszlások összehasonlító elemzésére. Az eljárások lehetővé teszik az egyes fehérjekomplexek egyértelmű azonosítását és ennek segítségével a különböző szimulációs eredmények összevetését eltérő kiindulási fehérjegyakoriságok és a partnerkötési tulajdonságokat befolyásoló mutációk esetében is. (Miski et al. 2022, [1])
3. Megállapítottam, hogy a keletkező fehérjekomplexek eloszlása és az egyedi fehérjék gyakorisága közötti kapcsolat összetett, csak szimulációkkal térképezhető fel. Nagyon hasonló kiindulási fehérjegyakoriságok is eredményezhetnek jelentősen eltérő fehérjekomplex-eloszlást, melynek a szinaptikus elmélet alapján funkcionális jelentősége lehet. (Miski et al. 2022, Miski proc. 2020 [1], [2])
4. Megmutattam, hogy egy hipomorf, azaz egy adott fehérje-fehérje kölcsönhatást csak kismértékben gyengítő mutáció hatása jelentősen függ az adott sejtekre jellemző fehérjegyakoriságoktól, emiatt csak adott sejtekben vagy sejtípusokban okoz szignifikáns változást. Mindemellett az is jellemző, hogy a legnagyobb változást mutató komplexek nem feltétlenül azok, amelyekben változással érintett interakciós partnerek szerepelnek. (Miski et al. 2024, [3])
5. Kidolgoztam egy munkafolyamatot a posztszinaptikus denzitásra jellemző egyes nagyméretű, többkomponensű fehérjekomplexek lehetséges háromdimenziós szerkezeteinek modellezésére. (Miski proc. 2019,2020,2022, [4]–[6])

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- [1] M. Miski, B. M. Keömley-Horváth, D. R. Megyeriné, A. Csikász-Nagy és Z. Gáspári, “Diversity of synaptic protein complexes as a function of the abundance of their constituent proteins: A modeling approach”, *PLOS Computational Biology*, 18. évfolyam, 1. szám, M. Migliore, szerkesztő, e1009758., 2022. jan. DOI: [10.1371/journal.pcbi.1009758](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009758). cím: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009758> (hivatkozási oldal 19).
- [2] M. Miski és A. Csikász-Nagy, “Analyses of protein-protein interactions in the PSD by stochastic simulations”, *PHD PROCEEDINGS ANNUAL ISSUES OF THE DOCTORAL SCHOOL FACULTY OF INFORMATION TECHNOLOGY AND BIONICS*, 15. évfolyam, 88–90. oldal, 2020, ISSN: 2064-7271 (hivatkozási oldal 19).
- [3] M. Miski, Á. Weber, K. Fekete-Molnár, B. M. Keömley-Horváth, A. Csikász-Nagy és Z. Gáspári, “Simulated complexes formed from a set of postsynaptic proteins suggest a localised effect of a hypomorphic Shank mutation”, *BMC Neuroscience*, 25. évfolyam, 1. szám, 2024. júl., ISSN: 1471-2202. DOI: [10.1186/s12868-024-00880-1](https://doi.org/10.1186/s12868-024-00880-1). cím: <http://dx.doi.org/10.1186/s12868-024-00880-1> (hivatkozási oldal 19).
- [4] M. Miski, K. Kornél, A. Csikász-Nagy és Z. Gáspári, “Integrative modeling of possible layouts of Kir2.1 localized in membranes and connected by PSD-95”, *JEDLIK LABORATORIES REPORTS*, VII. évfolyam, 29–32. oldal, 2019, ISSN: 2064-3942 (hivatkozási oldal 19).
- [5] M. Miski, “Analyses of protein-protein interactions related to nNOS by stochastic simulations”, *PHD PROCEEDINGS ANNUAL ISSUES OF THE DOCTORAL SCHOOL FACULTY OF INFORMATION TECHNOLOGY AND BIONICS*, vol. 14 évfolyam, 59–62. oldal, 2019, ISSN: 2064-7271 (hivatkozási oldal 19).
- [6] M. Miski és A. Csikász-Nagy, “Distribution and structure of postsynaptic protein complexes assessed by simulations”, *PHD PROCEEDINGS ANNUAL ISSUES OF THE DOCTORAL SCHOOL FACULTY OF INFORMATION TECHNOLOGY AND BIONICS*, vol. 16 évfolyam, 50. oldal, 2021, ISSN: 2064-7271 (hivatkozási oldal 19).



Irodalomjegyzék

- [1] H.-C. Kornau, “Postsynaptic Density/Architecture at Excitatory Synapses 73”, *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*, Elsevier, 2017. DOI: [10.1016/b978-0-12-809324-5.02357-9](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809324-5.02357-9). cím: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809324-5.02357-9> (hivatkozási oldal 4).
- [2] H. Jung, S. Kim, J. Ko és J. W. Um, “Intracellular signaling mechanisms that shape postsynaptic GABAergic synapses”, *Current Opinion in Neurobiology*, 81. évfolyam, 102728. oldal, 2023. aug. DOI: [10.1016/j.conb.2023.102728](https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102728). cím: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102728> (hivatkozási oldal 4).
- [3] Y. Yang és J.-J. Liu, “Structural LTP: Signal transduction, actin cytoskeleton reorganization, and membrane remodeling of dendritic spines”, *Current Opinion in Neurobiology*, 74. évfolyam, 102534. oldal, 2022. jún. DOI: [10.1016/j.conb.2022.102534](https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102534). cím: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102534> (hivatkozási oldal 4).
- [4] Y. Hayashi, “Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation – Towards multiscale understanding of learning and memory”, *Neuroscience Research*, 175. évfolyam, 3–15. oldal, 2022. febr. DOI: [10.1016/j.neures.2021.08.001](https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.08.001). cím: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2021.08.001> (hivatkozási oldal 4).
- [5] S. G. Grant, “The Synaptic Theory of Behavior and Brain Disease”, *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 83. évfolyam, 45–56. oldal, 2018. DOI: [10.1101/sqb.2018.83.037887](https://doi.org/10.1101/sqb.2018.83.037887). cím: <https://doi.org/10.1101/sqb.2018.83.037887> (hivatkozási oldalak 4, 5).
- [6] S. Franklin és T. M. Vondriska, “Genomes, Proteomes, and the Central Dogma”, *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 4. évfolyam, 5. szám, 576–576. oldal, 2011. okt. DOI: [10.1161/circgenetics.110.957795](https://doi.org/10.1161/circgenetics.110.957795). cím: <https://doi.org/10.1161/circgenetics.110.957795> (hivatkozási oldal 4).

- [7] M. Roy, O. Sorokina, N. Skene, C. Simonnet, F. Mazzo, R. Zwart, E. Sher, C. Smith, J. D. Armstrong és S. G. N. Grant, “Proteomic analysis of postsynaptic proteins in regions of the human neocortex”, *Nature Neuroscience*, 21. évfolyam, 1. szám, 130–138. oldal, 2017. dec. DOI: [10.1038/s41593-017-0025-9](https://doi.org/10.1038/s41593-017-0025-9). cím: <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0025-9> (hivatkozási oldal 5).
- [8] D. Rosenegger, C. Wright és K. Lukowiak, “A quantitative proteomic analysis of long-term memory”, *Molecular Brain*, 3. évfolyam, 1. szám, 2010. márc. DOI: [10.1186/1756-6606-3-9](https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-9). cím: <https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-9> (hivatkozási oldal 5).
- [9] J. Griffiths és S. G. Grant, “Synapse pathology in Alzheimer’s disease”, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 139. évfolyam, 13–23. oldal, 2023. ápr. DOI: [10.1016/j.semcdb.2022.05.028](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.05.028). cím: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.05.028> (hivatkozási oldal 5).
- [10] A. A. B. Jamjoom, J. Rhodes, P. J. D. Andrews és S. G. N. Grant, “The synapse in traumatic brain injury”, *Brain*, 144. évfolyam, 1. szám, 18–31. oldal, 2020. nov. DOI: [10.1093/brain/awaa321](https://doi.org/10.1093/brain/awaa321). cím: <https://doi.org/10.1093/brain/awaa321> (hivatkozási oldal 5).
- [11] J. H. Kotaleski és K. T. Blackwell, “Modelling the molecular mechanisms of synaptic plasticity using systems biology approaches”, *Nature Reviews Neuroscience*, 11. évfolyam, 4. szám, 239–251. oldal, 2010. ápr. DOI: [10.1038/nrn2807](https://doi.org/10.1038/nrn2807). cím: <https://doi.org/10.1038/nrn2807> (hivatkozási oldal 5).
- [12] J. A. Miller, S.-L. Ding, S. M. Sunkin, K. A. Smith, L. Ng, A. Szafer, A. Ebbert, Z. L. Riley, J. J. Royall, K. Aiona, J. M. Arnold, C. Bennet, D. Bertagnolli, K. Brouner, S. Butler, S. Caldejon, A. Carey, C. Cuhaciyany, R. A. Dalley, N. Dee, T. A. Dolbeare, B. A. C. Facer, D. Feng, T. P. Fliss, G. Gee, J. Goldy, L. Gourley, B. W. Gregor, G. Gu, R. E. Howard, J. M. Jochim, C. L. Kuan, C. Lau, C.-K. Lee, F. Lee, T. A. Lemon, P. Lesnar, B. McMurray, N. Mastan, N. Mosqueda, T. Naluai-Cecchini, N.-K. Ngo, J. Nyhus, A. Oldre, E. Olson, J. Parente, P. D. Parker, S. E. Parry, A. Stevens, M. Pletikos, M. Reding, K. Roll, D. Sandman, M. Sarreal, S. Shapouri, N. V. Shapovalova, E. H. Shen, N. Sjoquist, C. R. Slaughterbeck, M. Smith, A. J. Sodt, D. Williams, L. Zöllei, B. Fischl, M. B. Gerstein, D. H. Geschwind, I. A. Glass, M. J. Hawrylycz, R. F. Hevner, H. Huang, A. R. Jones, J. A. Knowles, P. Levitt, J. W. Phillips, N. Šestan, P. Wohnoutka, C. Dang, A. Bernard, J. G. Hohmann és E. S. Lein, “Transcriptional landscape of the prenatal human brain”, *Nature*, 508. évfolyam, 7495. szám, 199–206. oldal, 2014. ápr. DOI: [10.1038/nature13185](https://doi.org/10.1038/nature13185). cím: <https://doi.org/10.1038/nature13185> (hivatkozási oldal 8).
- [13] M. Giollo, A. J. Martin, I. Walsh, C. Ferrari és S. C. Tosatto, “NeEMO: a method using residue interaction networks to improve prediction of protein stability upon mutation”, *BMC Genomics*, 15. évfolyam, S4. szám, 2014. máj. DOI: [10.1186/1471-2164-15-s4-s7](https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-s4-s7). cím: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-s4-s7> (hivatkozási oldal 9).
- [14] J. G. Tate, S. Bamford, H. C. Jubb, Z. Sondka, D. M. Beare, N. Bindal, H. Boutselakis, C. G. Cole, C. Creatore, E. Dawson, P. Fish, B. Harsha, C. Hathaway, S. C. Jupe, C. Y. Kok, K. Noble, L. Ponting, C. C. Ramshaw, C. E. Rye, H. E. Speedy, R. Stefancsik, S. L. Thompson, S. Wang, S. Ward, P. J. Campbell és S. A. Forbes, “COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer”, *Nucleic Acids Research*,

47. évfolyam, D1. szám, D941–D947. oldal, 2018. okt. DOI: [10.1093/nar/gky1015](https://doi.org/10.1093/nar/gky1015). cím: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1015> (hivatkozási oldal 9).
- [15] M. K. Baron, “An Architectural Framework That May Lie at the Core of the Postsynaptic Density”, *Science*, 311. évfolyam, 5760. szám, 531–535. oldal, 2006. jan. DOI: [10.1126/science.1118995](https://doi.org/10.1126/science.1118995). cím: <https://doi.org/10.1126/science.1118995> (hivatkozási oldal 10).
- [16] J. A. Hartigan és M. A. Wong, “Algorithm AS 136: A K-Means Clustering Algorithm”, *Applied Statistics*, 28. évfolyam, 1. szám, 100. oldal, 1979. DOI: [10.2307/2346830](https://doi.org/10.2307/2346830). cím: <https://doi.org/10.2307/2346830> (hivatkozási oldal 10).
- [17] C. E. Holt, K. C. Martin és E. M. Schuman, “Local translation in neurons: visualization and function”, *Nature Structural & Molecular Biology*, 26. évfolyam, 7. szám, 557–566. oldal, 2019. júl. DOI: [10.1038/s41594-019-0263-5](https://doi.org/10.1038/s41594-019-0263-5). cím: <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0263-5> (hivatkozási oldal 13).
- [18] W. G. Walkup, T. L. Mastro, L. T. Schenker, J. Vielmetter, R. Hu, A. Iancu, M. Reghunathan, B. D. Bannon és M. B. Kennedy, “A model for regulation by SynGAP-1 of binding of synaptic proteins to PDZ-domain ‘Slots’ in the postsynaptic density”, *eLife*, 5. évfolyam, 2016. szept. DOI: [10.7554/elife.16813](https://doi.org/10.7554/elife.16813). cím: <https://doi.org/10.7554/elife.16813> (hivatkozási oldal 13).
- [19] M. Miski, Á. Weber, K. Fekete-Molnár, B. M. Keömley-Horváth, A. Csikász-Nagy és Z. Gáspári, “Simulated complexes formed from a set of postsynaptic proteins suggest a localised effect of a hypomorphic Shank mutation”, *BMC Neuroscience*, 25. évfolyam, 1. szám, 2024. júl., ISSN: 1471-2202. DOI: [10.1186/s12868-024-00880-1](http://dx.doi.org/10.1186/s12868-024-00880-1). cím: <http://dx.doi.org/10.1186/s12868-024-00880-1> (hivatkozási oldal 14).
- [20] M. Miski, K. Kornél, A. Csikász-Nagy és Z. Gáspári, “Integrative modeling of possible layouts of Kir2.1 localized in membranes and connected by PSD-95”, *JEDLIK LABORATORIES REPORTS*, VII. évfolyam, 29–32. oldal, 2019, ISSN: 2064-3942 (hivatkozási oldal 15).
- [21] A. Ö. Sungur, T. M. Redecker, E. Andres, W. Dürichen, R. K. W. Schwarting, A. del Rey és M. Wöhr, “Reduced Efficacy of d-Amphetamine and 3, 4-Methylenedioxymethamphetamine in Inducing Hyperactivity in Mice Lacking the Postsynaptic Scaffolding Protein SHANK1”, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11. évfolyam, 2018. nov. DOI: [10.3389/fnmol.2018.00419](https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00419). cím: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00419> (hivatkozási oldal 16).
- [22] D. Pascovici, J. X. Wu, M. J. McKay, C. Joseph, Z. Noor, K. Kamath, Y. Wu, S. Ranganathan, V. Gupta és M. Mirzaei, “Clinically Relevant Post-Translational Modification Analyses—Maturing Workflows and Bioinformatics Tools”, *International Journal of Molecular Sciences*, 20. évfolyam, 1. szám, 16. oldal, 2018. dec. DOI: [10.3390/ijms20010016](https://doi.org/10.3390/ijms20010016). cím: <https://doi.org/10.3390/ijms20010016> (hivatkozási oldal 16).
- [23] V. A. Petyuk, W.-J. Qian, M. H. Chin, H. Wang, E. A. Livesay, M. E. Monroe, J. N. Adkins, N. Jaitly, D. J. Anderson, D. G. Camp, D. J. Smith és R. D. Smith, “Spatial mapping of protein abundances in the mouse brain by voxelation integrated with high-throughput liquid chromatography-mass spectrometry”, *Genome Research*,

17. évfolyam, 3. szám, 328–336. oldal, 2007. febr. DOI: [10.1101/gr.5799207](https://doi.org/10.1101/gr.5799207). cím: <https://doi.org/10.1101/gr.5799207> (hivatkozási oldal [17](#)).